Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. Dr. W. N e u m a n n .

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE TOXIZITÄT NATIVER UND FRAKTIONIERTER GIFTE VON SCHLANGEN UND BIENEN.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Lydia W l o s c z y k
aus Zawisna

Würzburg 1954

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. Dr. W. N e u m a n n .

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE TOXIZITÄT NATIVER UND FRAKTIONIERTER GIFTE VON SCHLANGEN UND BIENEN.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Lydia W l o s c z y k
aus Zawisna

Würzburg 1954

Referent:

Professor Dr. Dr. W. N e u m a n n

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Tag der mündl. Prüfung:

30. Juni 1954

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität Würzburg.

Inhaltsübersicht:

Seite

I.) Einleitung 2

II.) Experimenteller Teil

A.) Methodik

a.)Versuchstiere und Art der Injektion 4

b.)Verwendete Gifte 4

B.) Eigene Versuche

a.)Toxizität von Colubridengift (Naja haje,N.nigricollis)

1. Nativgift 5
2. Pikratgift 6
3. Giftfraktionen 7
4. Gealterte Giftlösungen 10
5. Temperatureinwirkung 11
6. Änderung des pH-Wertes 12
7. Thermostabilität von N.-nigricollis-Gift 12
8. Inaktivierungsversuch mit Cystein 14
9. Vergiftungsablauf 15

b.)Toxizität einiger Viperidengifte

1. Gifte von Vipera berus, Ammodytes, Echis carinatus, Bitis arietans 16
2. Thermostabilität von Ammodytesgift 18
3. Gealterte Giftlösungen (Echis, Bitis) 19
4. Vergiftungsbild 21

c.)Toxizität von Bienengift

1. Nativgift 21
2. Pikratgift 22
3. Giftfraktionen 23
4. Bienengift-Cysteinversuch 24
5. Vergiftungsbild 25

III.) Besprechung 26

IV.) Zusammenfassung 28

V.) Literaturnachweis 31

VI.) Lebenslauf 32

Über die eigentliche Todesursache bei Vergiftungen durch Schlangengifte ist noch relativ wenig bekannt. Man hat im Laufe der Zeit die verschiedensten pharmakologischen Effekte hierfür verantwortlich gemacht, z. B. curareartige, hämolytische, blutkoagulierende oder auch zentrallähmende Wirkungen. In neuerer Zeit tauchte mit zunehmender Erkenntnis der hohen und recht verschiedenartigen Fermentaktivität der Gifte (vgl. die Zusammenstellung bei (ZELLER) die Frage auf, ob nicht der Schlangengifttod enzymatisch bedingt sei. Insbesondere dachte man an Phospholipase A, welche lebenswichtige Phospholipoide zersetzen, an Cholinesterase, welche die Überträgerfunktion der verschiedensten Synapsen stören könnte, oder an Phosphatasen, welche energiereiches Phosphat bzw. intermediär phosphorylierte Stoffwechselprodukte abbauen könnten. Schließlich wäre noch denkbar, daß proteolytische Fermente durch ihren Einfluß auf die Blutgerinnung oder durch Freisetzung pharmakologisch aktiver Komponenten aus Plasma (Bradykinin, Kallidin) den Körper schädigten.

Für verschiedene Fermente - allerdings noch nicht für solche aus Schlangengiften - ist bereits eine gewisse Toxizität nachgewiesen worden. So führt intravenöse Injektion von Trypsin bei Katzen und Kaninchen zu eventuell tödlichem Blutdruckabfall (ROCHA e SILVA). Nach SUMNER können 0,3 Milligramm kristalline Urease ein Kaninchen töten. Nach MACFARLANE und KNIGHT ist das α-Toxin des Clostridium welchii identisch mit Phospholipase C. Es gibt jedoch auch zahlreiche Befunde, welche gegen eine entscheidend hohe Toxizität der in Schlangengiften vorhandenen Fermente sprechen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte zunächst ein Überblick über die Allgemeintoxizität verschiedener Schlangengifte und von Bienengift bei unterschiedlicher Applikationsform gewonnen werden; anschließend sollte versucht werden, Einblicke in die Natur der wirksamen Komponente(n) zu gewinnen. Zu diesem Zwecke wurden einige

im Chemischen Institut der Universität Würzburg dargestellte elektrophoretische Fraktionen von Schlangengift sowie die chromatographischen und papierelektrophoretischen Fraktionen von Bienengift (NEUMANN u. HABERMANN) ausgewertet und schließlich die Frage der Inaktivierbarkeit der Gifte durch Erhitzen bzw. Stehenlassen bei verschiedenem pH und durch Behandlung mit Sulfhydrylverbindungen überprüft.

A.) Methodik.

a.) Versuchstiere und Art der Injektion.

Wir benutzten weiße Mäuse vom Gewicht zwischen 15 und 33 Gramm. Es wurde darauf geachtet, daß bei jeder Versuchsreihe annähernd gleich schwere Tiere gebraucht wurden; für die intravenöse Injektion wurden stets möglichst große Mäuse ausgesucht. Die Tiere wurden mit Hafer, Brot und Wasser gefüttert. Die Injektion erfolgte intraperitonaeal, intravenös oder subcutan auf die übliche Weise. Anschließend wurden die Tiere 24 Stunden beobachtet. Sie blieben während dieser Zeit ohne Nahrung.

b.) Verwendete Gifte:

Von Naja-nigricollis-Gift wurden 2 verschiedene Chargen benutzt, welche sich elektrophoretisch (HABERMANN) und auch, wie wir im Laufe der Untersuchungen feststellen konnten, in ihrer Toxizität unterschieden; Naja-nigricollis-Gift I wurde ebenso wie das Ammodytes Gift von der Firma Basilisk-Basel bezogen, Naja-nigricollis-Gift II stammte aus Aethiopien (Schlangenfarm Asmara).

Aus Aethiopien wurden ferner die Gifte von Naja haje, Bitis arietans und Echis carinatus geliefert.

Vipera-berus-Gift war im Pharmakologischen Institut Würzburg im Winter 1952/53 gewonnen worden.

Bienennativgift hatte Dr. HABERMANN im Herbst 1953 bei der Firma H. Mack Nachf., Illertissen, erhalten.

Als gereinigtes Bienengift diente sogen. Bienenpikratgift 51 bzw. 52 der Firma H. Mack Nachf..

Fraktion I von Bienengift wurde zum Teil papierelektrophoretisch (HABERMANN), zum Teil chromatographisch (F. G. FISCHER u. W. P. NEUMANN) gewonnen.

Die elektrophoretischen Fraktionen der Gifte von Naja haje und Naja nigricollis wurden im Chemischen Institut der Universität Würzburg von F. G. FISCHER u. W. P. NEUMANN mittels einer präparativen TISELIUS-Apparatur nach WIEDEMANN isoliert.

Auch die bei verschiedenem pH gealterten Gifte von Bitis, Echis, Naja nigricollis II und Naja haje erhielten wir aus dem Chemischen Institut (W. P. NEUMANN).

B.) Eigene Versuche.

1. Toxizität nativer Schlangengifte.

a.) Naja haje:

Das Gift wurde zunächst intravenös injiziert. Die DL_{50} betrug dabei 0,5 Gamma/g. Die intraperitonaeale Injektion erbrachte demgegenüber keinen wesentlichen Unterschied in der Sterblichkeit. Die intravenös vergifteten Tiere starben aber schneller (s. Tabelle 1).

Tabelle 1

Überlebenszeit nach Injektion von Naja-haje-Nativgift.

Gamma/g	Injektion i. v. Tod nach			Injektion i. p. Tod nach		
2	25Min.					
1	1Std.40Min.	10Min.				
0,75	18 "	35 "	55Min.	35Min.	4Std.18Min.	12Std.	5Std.41Min.
0,625	39 "	26 "	ca 13Std.	ca24Std.	-	-	-
0,5	ca 15Std.	o	o	-	ca 10Std.	ca 10Std.	o
0,25	o	o	o	o	o	o	-

o = Tier gesund überlebend.

b.) Naja nigricollis I:

Nach intraperitonaealer Injektion starben alle Tiere bis herab zu 1,5 Gamma/g, nach intravenöser Injektion bis 2 Gamma/g. Die subcutan vergifteten Tiere starben erst bei 3 Gamma/g. Die LD_{50} lag somit etwa bei 1,5 Gamma/g nach

intravenöser Injektion, bei 1-1,5 Gamma/g nach intraperitonaealer und zwischen 2 und 3 Gamma/g nach subcutaner Injektion (s. Tabelle 2).

Tabelle 2

Sterblichkeit nach Injektion von Naja-nigricollis-I-Nativgift.

Gamma/g	i.v.	i.p.	s.c.
6		+	+ + +
4		+ + +	+ + o
3		+ + +	+ + +
2	+ + +	+ + +	o o o(k)
1,5	+ o o	+ + +	o o o
1	o o o	+ o o	o o o

+ = Tier tot
o = Tier gesund
o (k) = Tier krank nach 24 Std.

c.) Naja-nigricollis-II-Nativgift.

Nach intraperitonaealer Injektion waren 0,5 Gamma/g für alle Tiere tödlich. 0,4 Gamma/g wurden überlebt. Die LD_{50} dürfte also bei 0,45 Gamma/g liegen.

2. Toxizität von über das Pikrat aufgearbeiteten Giften.

a.) Naja haje, intravenöse Injektion.

Nach Injektion des mit Pikrinsäure gefällten Giftes trat der Tod der Tiere etwas später ein als bei Applikation des nativen Giftes. 0,5 Gamma/g wurden von allen Tieren überlebt. Die mittlere letale Dosis lag bei etwa 0,625 Gamma/g.

b.) Naja nigricollis II, intraperitonaeale Injektion.

Die LD_{50} für das Pikratgift wurde ebenso wie die des Nativgifts etwa bei 0,45 Gamma/g gefunden; jedoch fiel eine

gewisse Streuung auf. Bei 0,4 Gamma/g starb noch ein Tier, während bei 0,5 , 0,75 und 2 Gamma/g je eines von 3 Tieren überlebte.

3. Toxizität von Giftfraktionen.+

Die ersten Auftrennungen von Schlangengiften wurden 1937 auf dem Wege der Elektrodialyse (GHOSH, DE) und Kataphorese (MICHEEL und Mitarb.) erzielt; und zwar mit dem Gift von Naja haje. 1946 und 1947 folgten Veröffentlichungen über Elektrophoreseversuche, die von POLSON und Mitarbeitern mit Colubridengift, von GONÇALVES und POLSON mit Viperidengift ausgeführt worden waren. Bei beiden Giftarten wurde in der Komponente T immer die hämolytische mit der neurotoxischen Eigenschaft vereinigt gefunden. Bei unseren nun folgenden Versuchen kamen Giftfraktionen zur Anwendung, die durch präparative Elektrophorese erhalten worden waren.

Die Bezeichnung der Fraktionen entspricht ihrer unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit zur Kathode hin: Fraktion A wanderte am schnellsten, E befand sich am Startpunkt, die übrigen Fraktionen lagen dazwischen.

a) Naja haje.

Zunächst wurde die Fraktion A, der"kathodische Vorläufer" bei der Elektrophorese, auf ihre Giftigkeit geprüft. Bei 0,6 Gamma/g starben alle Tiere, bei 0,4 Gamma/g über die Hälfte, und 0,2 Gamma/g überlebten alle. Im Vergleich zum Nativgift war möglicherweise die tödliche Dosis um 0,1 Gamma/g gestiegen, was aber in Anbetracht der geringen Zahl der eingesetzten Tiere nicht signifikant ist.

Die ebenfalls kathodisch wandernde Hauptfraktion B führte am ersten Tag der Elektrophorese in einem Orientierungsversuch bei 0,9 Gamma/g zum Tod der Tiere; 0,45 Gamma/g überlebten alle.

Am 5. Tag der Elektrophorese ergab sich für diese Fraktion eine Toxizitätsminderung. 0,9 Gamma/g wurden noch überlebt, bei der doppelten Menge starben alle Tiere (Tabelle 3a).

+ Alle folgenden Injektionen wurden intraperitonaeal vorgenommen.

Tabelle 3 a

Toxizität elektrophoretischer Fraktionen von N.-haje-Gift.

Gamma/g	Fr. A	Fr. B am 1. Tag	Fr. B am 5. Tag	Nativgift
3,6		+	+	
3,2	+			
1,8		+ +	+ +	
1,6	+			
0,9		+ +	o o(k)	
0,8	+ + + + + +			
0,75				+ + +
0,6	+ + +			
0,5				+ + o
0,45		o	o	
0,4	+ + + o o			
0,25				o o o
0,2	o o o			

Von den Fraktionen C, D und E war Fraktion C am wenigsten toxisch. Die mittlere letale Dosis betrug hier 0,8 Gamma/g im Vergleich zum Nativgift mit 0,5 Gamma/g.

Fraktion D zeigte höchstens angedeutet eine Toxizitätszunahme gegenüber dem Ausgangsmaterial. Es starben bei 0,5 Gamma/g sämtliche Tiere, 0,25 Gamma/g wurden überlebt.

Fraktion E lag dem Toxizitätsgrade nach zwischen den beiden Fraktionen D und C (vgl. Tab. 3 b).

Tabelle 3 b

Toxizität elektrophoretischer Fraktionen von N.-haje-Gift.

Gamma/g	Fr. D	Fr. E	Fr. C	Nativgift
1,0	+	+	+ + +	
0,75	+ + +	+ + +	+ o o	+ + +
0,5	+ + +	+ o o	o o o	+ + o
0,25	o o o	o o o	o o o	o o o

b) Naja nigricollis II

Die in einem ersten Versuch dargestellte, bei der elektrophoretischen Trennung am schnellsten wandernde Fraktion B des Nigricollisgiftes zeigte gegenüber dem nativen Gift eine um 50 % geringere Toxizität. Die LD_{50} lag zwischen 0,5 und 0,75 Gamma/g. Diese Fraktion war jedoch verunreinigt mit der folgenden Fraktion C. Eine später gewonnene Fraktion B hatte einen noch deutlicheren Toxizitätsverlust gegenüber dem Ausgangsmaterial. Hier betrug die LD_{50} etwa 1,5 Gamma/g.

Von den drei folgenden Fraktionen erwies sich Fraktion C als giftigste. Gegenüber dem Ausgangsmaterial war eine Toxizitätssteigerung um ca 20 % zu verzeichnen. Die mittlere letale Dosis lag bei etwa 0,3-0,4 Gamma/g.

Fraktion D war weniger toxisch als das native Gift (LD_{50} bei 1-1,5 Gamma/g).

Fraktion E war am wenigsten giftig. Erst bei 2 Gamma/g starb ein Tier, die beiden anderen überlebten auch diese Dosis.

Tabelle 4

Vergleich der Toxizität elektrophoretischer Fraktionen von N.-nigricollis-II-Gift.

Gamma/g	B vom 1.2.	B vom 9.2.	C	D	E	nativ
3	+ +			+ + +		
2	+ + +	+ +		+ + +	+o(k)o	
1,5		+ o o		+ + +		
1,0	+ + +	o o o	+	o o o	o o o	+ + +
0,75	+ + +		+ + +	+ o o	o o o	+ + +
0,5	o o o	o o o	+ + +		o o o	+ + +
0,4			+ + o			o o o
0,25			o o o			

Vergleichen wir die beiden fraktionierten Colubridengifte miteinander, so ergibt sich für das Gift von Naja haje das Maximum an Toxizität in Fraktion D, für Naja nigri-

collis in Fraktion C. Beide Fraktionen haben gegenüber dem Ausgangsmaterial etwas an Wirksamkeit zugenommen (s. Tabelle 5).

Tabelle 5

Toxizität (LD_{50} in Gamma/g Körpergewicht) der elektrophoretischen Fraktionen von N.-haje-und N.-nigricollisgift.

Giftart	nativ	Fr. A	Fr. B		Fr. C	Fr. D	Fr. E
N.haje	0,45	0,4	0,45-0,9		0,8	0,25-0,5	0,5
N.nigric.	0,5	-	0,625	1,58	0,3-0,4	1,0-1,5	2-3

4. Toxizität gealterter Giftlösungen.

Es sollte untersucht werden, ob unter den Bedingungen der Elektrophorese ein Wirksamkeitsverlust eintrat.

Naja-haje-Nativgift.

Das Gift wurde in der Konzentration 1 : 1000 in Puffer nach MICHAELIS und modifiziert nach WIEDEMANN (bestehend aus Veronalnatrium, Natriumacetat, Salzsäure und Natriumoxalat) 7 Tage bei pH 6,2 und 2°C aufbewahrt. Die LD_{50} lag danach zwischen 0,5 und 0,75 Gamma/g; gegenüber der frischbereiteten Giftlösung (LD_{50} 0,45 Gamma/g) war sie also nur unbedeutend angestiegen.

Naja-nigricollis-II-Nativgift.

Auch dieses Gift hatte nach 7-tägiger Aufbewahrung in Puffer nach MICHAELIS-WIEDEMANN unter den gleichen Bedingungen wie das von Naja haje etwas an Wirksamkeit verloren. Die ursprüngliche LD_{100} von 0,5 Gamma/g (bei frischer Giftlösung) führte nur zu einer leichten Beeinträchtigung der Tiere in den ersten Stunden nach der Injektion. Bei 0,75 Gamma/g

starben aber alle Tiere.

Tabelle 6

Vergleich frischen und gealterten Haje-bzw. Nigricollisgiftes.

	N. haje		N.nigricollis	
Gamma/g	frisch	7 Tage	frisch	7 Tage
1,0	-	+ +	+ + +	+ +
0,75	+ + +	+ +	+ + +	+ +
0,5	+ + o	o o	+ + +	o o
0,25	o o o	o o	(0,4: o o o)	o o

5. Toxizität nach Temperatureinwirkung.

Naja-haje-Nativgift in der Konzentration 1 : 1000 wurde 11 Stunden bei pH 7,2 und 37° C gehalten. Die absolut tödliche Dosis blieb 0,75 Gamma/g wie bei unbehandeltem Gift. 0,5 Gamma/g wurden von allen Tieren überlebt; 2 von 3 Tieren waren jedoch am Ende der Beobachtungszeit krank. Es war also eine geringe Abnahme der Toxizität eingetreten.

Tabelle 7

Vergleich der Toxizität von bebrütetem und unbebrütetem Haje-Gift.

Gamma/g	bebrütet bei 37°C	nativ
2	+	
1	+	
0,75	+ + +	+ + +
0,5	o(k)o(k)o	+ + o
0,25	o o	o o o

6. Toxizität nach Änderung des pH-Wertes.

Die Lösungen der Gifte von Naja haje und Naja nigricollis II in der Konzentration von 1:1000 wurden im Puffer nach MICHAELIS-WIEDEMANN (pH 8,5) 5 Stunden bei 2°C stehengelassen, anschließend mit 0,1 n Salzsäure bis zu pH 6,4 neutralisiert.

Es ergab sich für das Naja-haje-Gift kein wesentlicher Aktivitätsverlust. Das zweite Tier der Dosis 0,5 Gamma/g kam erst nach 26 Stunden ad exitum.

Bei 0,5 Gamma/g Nigricollisgift blieb von 5 Tieren eines am Leben, während 0,4 Gamma/g noch bei 2 Mäusen zum Tode führte. Die gleiche Dosis unveränderten Nativgifts war dagegen überlebt worden. Es war also möglicherweise eine geringe Aktivitätszunahme eingetreten.

Tabelle 8

Änderung der Toxizität von Schlangengiften bei pH 8,5.

	N. haje		N. nigricollis II	
Gamma/g	Ausgangsgift	bei pH 8,5 gehalten	Ausgangsgift	bei pH 8,5 gehalten
0,75	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
0,5	+ + o	+(+)[1] o	+ + +	+ + + + o
0,4			o o o	+ + o
0,25	o o o			

1) Tod nach 26 Std.

7. Thermostabilität von Naja-nigricollis-Gift I.

Einfluß von Säure und Lauge.

Versuchsanordnung: Es wurden jeweils 0,5 ccm Giftlösung (1:500 in physiologischer Kochsalzlösung) mit

0,5 ccm n/10 Salzsäure bzw. n/10 Natriumkarbonat versetzt. Anschließend wurde 15 Minuten im Wasserbad von 98°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit n/10 Salzsäure bzw. Natriumkarbonat auf pH 7,0 eingestellt und mit physiologischer Kochsalzlösung weiterverdünnt.

Das mit Natriumkarbonat erhitzte Gift verursachte noch bei 7 Gamma/g keinerlei Krankheitserscheinungen. Es lag also ein Rückgang der Allgemeintoxizität von mindestens 80 % vor. Höhere Dosen wurden nicht injiziert.

Auch das mit Salzsäure behandelte Gift hatte an Aktivität verloren, jedoch in weitaus geringerem Ausmaß. Die LD_{100} betrug 2 Gamma/g (Nativgift: 1,5 Gamma/g). Von den Versuchstieren wurden 1,5 Gamma/g ohne Beeinträchtigung überstanden. Bei 1,0 Gamma/g starb noch eines von 3 Tieren.

Einwirkung von Pufferlösungen verschiedener pH-Werte.

Zur Einstellung von pH 5 und 6 wurde der Citronensäure-phosphatpuffer nach MCILVAINE, 1 : 5 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, verwendet; zur Einstellung von pH 7 Phosphatpuffer nach SÖRENSEN.

Versuchsanordnung: Jeweils 1 ccm Giftlösung 1 : 500 in physiologischer Kochsalzlösung wurde mit 1 ccm Pufferlösung von pH 5,0 , 6,0 oder 7,0 im Wasserbad von 98°C 15 Min. lang erhitzt und nach Abkühlen mit n/10 Natriumkarbonat neutralisiert.

Wie Tabelle 9 zeigt, war bei allen erhitzten Ansätzen ein Aktivitätsabfall zu verzeichnen, der im Sauren ca 30 % betrug, am Neutralpunkt und im Alkalischen aber sehr stark war. Das bei pH 7 erhitzte Gift sah trübe aus.

Tabelle 9

Thermostabilität von Naja-nigricollis-Gift I.

Dosis	Gift erhitzt mit 0,05n HCl	bei pH 5	bei pH 6	bei pH 7	0,05n Na_2CO_3	nativ
15 Gamma/g				(+)[1]		
10 "				o o		
8 "				o		
7 "					o	
5 "	+				o	
4 "		+ +	+ +	o		
3 "		+ + o	+ + o			
2 "	+ + +	+ o o	+ o(k)o(k)		o	
1,5 "	o o o	+ o o				+ + +
1,0 "	+ o o	o o o	o o o		o	+ o o
0,75"	o o o					o o o

1) Tod nach etwa 36 Std.

8. Versuch einer Inaktivierung von Nigricollisgift durch Cysteinzusatz.

BINET, WELLER und ROBILLARD beschrieben eine Inaktivierung von Cobragift und Bienengift durch verschiedene Sulfhydrylverbindungen. Sie nahmen an, daß durch dieselben eine Reduktion von S-S-Bindungen erfolge. MICHEEL und SCHMITZ dagegen fanden bei Einwirkung sehr großer Überschüsse an Cystein (40 bis 80-fache Gewichtsmenge) auf gereinigtes Neurotoxin von Colubriden (N. tripudians, N. flava) nur eine kleine Abnahme, bis zu etwa 25 %, der Wirksamkeit. Da eine solche Reduktion einerseits wichtige Hinweise auf die toxische Natur der Substanzen geben, andererseits von therapeutischem Nutzen sein könnte, wurden die Versuche der genannten Autoren von uns mit Cystein als SH-Donator wieder-

holt.

Wir versetzten eine Nigricollisgiftlösung 1 : 500 mit dem gleichen Volumen 2%iger Cysteinlösung in physiologischer Kochsalzlösung, welche mit 10%igem tertiärem Natriumphosphat auf pH 7,0 eingestellt worden war. Der Ansatz kam dann für eine Stunde in ein Wasserbad von 37°C. Er sah danach leicht getrübt aus. Im Laufe der nächsten Stunden setzte sich ein weißer Niederschlag ab, der aber nichts mit dem Gift zu tun hatte, da er auch in der giftfreien Kontrolle auftrat. Die Giftlösung ergab bei intravenöser Injektion keine anderen Werte als unbehandeltes Nigricollisgift. Bei BINET und Mitarbeitern hatten die Versuchstiere, ebenfalls Mäuse, die 2 bis 3-fach tödliche Dosis Cobragift überstanden, wenn dieses mit Cystein vorbehandelt worden war. Reine Cysteinlösung 1 : 100 war ungiftig.

Tabelle 10

Toxizität von N.-nigricollis-Gift I mit und ohne Cysteinzusatz

Gamma/g	mit Cystein	ohne Cystein
2	+ + +	+ + +
1,5	+ o o	+ o o
1,0	o o o	o o o

9. Vergiftungsablauf.

Schließlich soll noch auf die Krankheitserscheinungen eingegangen werden, die sich bei den vergifteten Tieren zeigten. Beide Gifte ergaben das gleiche Bild:
Einige Minuten nach der intravenösen oder intraperitonaealen Injektion wird die Atmung vertieft und beschleunigt; die Tiere sitzen bewegungsarm da, kommen nur mit Mühe vorwärts und bleiben schließlich liegen. Die Atmung wird ziehend, die Frequenz läßt nach. Dieses Stadium dauert entsprechend

der injizierten Giftmenge einige Minuten bis zu etwa 10 Stunden. Mit zunehmender Atemnot und Erstickungserscheinungen, oft auch nach einigen Sekunden wilden Umherspringens, werden die Tiere bewußtlos. Der Tod tritt dann nach 1-2 Minuten unter mehr oder weniger häufigen Zuckungen der Extremitäten und seltenen schnappenden Atemzügen ein.

Bei den verschieden vorbehandelten Giften ließ sich im Vergiftungsablauf kein Unterschied zum nativen Gift beobachten. Die Injektionsart war insofern von Einfluß, als die Symptome nach subcutaner Applikation des Nigricollisgiftes etwa eine Stunde später eintraten, der Tod also auch bei hohen Giftdosen nicht vor Ablauf der ersten Stunde erfolgte. Die intravenöse Injektion führte frühestens nach 10 Minuten, die intraperitonaeale Injektion frühestens nach 20 Minuten zum Tode.

b.) Toxizität einiger Viperidengifte.

1. Nativgift.

Das Gift der europäischen Kreuzottern Vipera berus und V. ammodytes sollte auf seine Allgemeintoxizität hin geprüft werden.

Für V. berus fand sich bei intraperitonaealer Injektion die absolut tödliche Dosis von 1,5 Gamma/g. MENK gibt diesen Wert auch für intravenöse Injektion an.

Das Ammodytesgift wurde intravenös und intraperitonaeal injiziert. Nach intravenöser Injektion starben bei 1,5 Gamma/g alle Tiere, intraperitonaeal vergiftet erst mit 2 Gamma/g. Bei dem i. v. injizierten Gift streuten die Werte bis zu den Dosen von 0,75 Gamma/g. Die Dosen stimmen mit den von OTTO gefundenen annähernd überein; er erhielt bei intravenöser Injektion von 1,5 Gamma/g zwei überlebende und ein totes Tier.

Tabelle 11

Toxizität von Viperidengiften

	V.berus	V.ammodytes	
Gamma/g	i.p.	i.p.	i.v.
2	+ + +	+ + +	+
1,5	+ + +	+ + o(k)o(k)	+ + + +
1,25			+ + o o
1,0	+o(k)o	o o o	+ o o
0,75	+ o o	o	+ o o
0,5		o	o o o

Ferner wurde die Toxizität der Gifte von Echis carinatus und Bitis arietans bestimmt.

Echis-carinatus-Gift hatte bei 2 Gamma/g für alle Tiere tödliche Wirkung; es kam jedoch bei 3 Gamma/g noch ein überlebendes und bei 0,5 Gamma/g ein totes Tier vor. Die Dosis letalis für 50 % Tiere dürfte demnach bei etwa 1,25 Gamma/g liegen.

Vom Bitis-arietans-Gift führten 1,5 Gamma/g zum Tod aller Tiere, bei 0,75 Gamma/g starben noch zwei von dreien. Allerdings fanden sich bei einem von diesen Tieren große Blutkoagula an der Einstichstelle in den Bauchdecken, so daß der Tod durch inneres Verbluten eingetreten sein könnte. Die LD_{50} dürfte bei 1,0 Gamma/g liegen.

Tabelle 12

Toxizität von Echis-und Bitis-Gift bei i.p. Injektion.

Gamma/g	Echis carinatus	Bitis arietans
4	+ + +	+
3	+ + o	+ + +
2	+ + +	+ + +
1,5	o(k)	+ + +
1,0	+ + o	+ o(k)o(k)
0,75	o o o	+ + o
0,5	+ o o	o o o

2. Thermostabilität von Ammodytesgift bei saurer und alkalischer Reaktion.

Zunächst wurde eine Giftlösung 1:500 zu gleichen Teilen mit 0,1 n Salzsäure (I) bzw. 0,1 n Natriumkarbonat (II) versetzt, so daß die Giftkonzentration beider Ansätze 1:1000 betrug. In der alkalischen Lösung fiel ein flockiger Niederschlag aus. Nach 15-minutigem Erhitzen im Wasserbad von 98°C wurden die Lösungen neutralisiert: Lösung I mit 0,1n Natriumkarbonat (dabei Trübung), Lösung II fiel nach Zusatz von 0,1n Salzsäure feinflockiger und stärker aus als vorher.

Die intraperitonaeale Injektion ergab für beide Lösungen einen Verlust an Toxizität, besonders stark bei dem mit Natriumkarbonat erhitzten Gift. 14 Gamma/g wurden ohne Krankheitserscheinungen vertragen. Das mit Salzsäure behandelte Gift war weitgehend, aber nicht ganz unwirksam geworden. Bei 5 und 8 Gamma/g starb je ein Tier, während andererseits 6 und 10 Gamma/g noch überlebt wurden.

Zur näheren Prüfung der Empfindlichkeit im sauren Bereich wurde jeweils 1 ccm Citronensäurephosphatpuffer von pH 5 bzw. pH 7 (1:5 verdünnt mit 0,85%iger Kochsalzlösung) mit 1 ccm Ammodytesgiftlösung versetzt und 15 Minuten auf 98°C erhitzt. Die Lösung von pH 7 wies danach eine leichte Trübung auf, der Ansatz mit pH 5 sah stark getrübt aus. Er wurde mit einigen Tropfen 0,1n Natriumkarbonat neutralisiert.

Die intraperitonaeale Injektion ergab, daß beide Lösungen stark an Giftigkeit verloren hatten. Das bei pH 5 erhitzte Gift führte erst bei 8 Gamma/g, das pH 7-Gift erst bei 10 Gamma/g zum Exitus eines Tieres (s. Tabelle 13).

Tabelle 13

Wirkungsabnahme des Giftes von V. ammodytes bei Erhitzung bei verschiedenem pH.

Gamma/g	0,1n HCl	0,1n Na_2CO_3	pH 5	pH 7	Nativgift
14		o			LD_{50}:
10	o	o o o		+	1,5 Gamma/g
8	+ o	o	+	o o	
7		o	o	o	
6	o o		o o		
5	+		o	o(k)	
4	o o		o o	o	

3. Toxizität gealterter Giftlösungen (Echis, Bitis).

Die Lösungen der beiden Gifte wurden 9 Tage bei pH 6,2 im Veronal-Salzsäure-Acetatpuffer aufbewahrt und danach auf etwaige Toxizitätsveränderungen geprüft.

Abweichend von den bei frischer Lösung des Echis-Gifts gefundenen Werten überlebten 1 Gamma/g alle Tiere; zwei waren jedoch krank am Ende der Beobachtungszeit.

Beim Bitisgift lag die für alle Tiere letale Dosis bei 2 Gamma/g im Vergleich zu 1,5 Gamma/g der frischen Giftlösung. Die zwei überlebenden Tiere von 1,5 Gamma/g waren aber krank. Somit läßt sich bei beiden Giften eine geringe Abnahme der Aktivität feststellen.

Die beiden Gifte wurden bei pH 3 über 24 Stunden hin im Puffer nach MICHAELIS-WIEDEMANN gehalten. Vor der Injektion erfolgte Neutralisation mit 0,1n Natriumkarbonat zu pH 7. Das Echis-Gift wurde dabei leicht trübe, das Bitis-Gift leicht flockig. Das letztere ließ einen deutlichen Verlust an Toxizität erkennen. Das erste tote Tier fand sich bei 4 Gamma/g. Die maximal letale Dosis des unbehandelten Giftes überlebten alle Tiere. Das Echis-Gift war

erheblich weniger geschwächt worden. 2 Gamma/g blieb maximal letale Dosis, während 1 Gamma/g von allen Tieren überlebt wurde.

Ferner wurden die Gifte im Puffer von pH 9 (das Bitis-Gift 48 Stunden bei 2°C und 24 Stunden bei -18°C, Echis-Gift 24 Stunden bei 2°C) aufbewahrt. Die Lösungen sahen danach leicht getrübt aus. Nach Neutralisierung zu pH 7,4 erfolgte intraperitonaeale Injektion. Das Echis-Gift hatte seine Wirksamkeit vollständig behalten.

Für das Gift von Bitis arietans kann im Alkalischen eine geringe, im Sauren eine starke Abschwächung der Toxizität angenommen werden. Von dem bei pH 9 gehaltenen Gift wurden 1,5 Gamma/g noch von einem Tier krank überlebt und 0,75 Gamma/g ohne Beeinträchtigung überstanden. Bei pH 3 dagegen starben die Mäuse erst ab 4 Gamma/g.

Tabelle 14

Toxizitätsabnahme beim Stehenlassen.

	Echis-carinatus-Gift			i.p. Injektion
Gamma/g	pH 3	pH 6	pH 9	nativ
4	+ + + +		+	+ + +
3	+ + o(k)			+ + o
2	+ + +	+ +	+ + +	+ + +
1,5		+ + o(k)	+ + +	o(k)
1,0	o o o	o o(k)o(k)	+ + o(k)	+ + o
0,75		o o(k)	o o o	o o o
	Bitis-arietans-Gift			i.p. Injektion
5	+			
4	+ o(k)o			
3	o			
2	o o o	+ +	+	+ + +
1,5		+ o(k)o(k)	+ + o(k)	+ + +
1,0	o o o	o o o	+ o(k)o	+ o(k)o(k)
0,75		o o	o o	+ + o

4. Vergiftungsbild.

Die beiden europäischen Otterngifte, V. ammodytes und V. berus, sowie das Gift von Bitis arietans riefen wenige Minuten nach der intraperitonaealen Injektion tödlicher Dosen große Unruhe und stark beschleunigte Atmung hervor. Auch ein Teil der überlebenden Tiere zeigte die gleichen Symptome, erholte sich jedoch von diesem Zustand. Die anderen Tiere wurden zunehmend schwächer und lagen schließlich bewegungslos, ohne jedoch völlig atonisch zu sein. 1-2 Stunden vor dem Exitus vertiefte sich die Atmung und ließ an Frequenz nach. Der Tod trat unter leichten Streckbewegungen der Extremitäten ein; beim intravenös verabreichten Ammodytesgift waren bei einigen Tieren starke klonische Krämpfe vorhanden.

Beim Echis-Gift fehlten die Zeichen von Unruhe. Im Vordergrund stand die verlangsamte und angestrengte Atmung. Sie steigerte sich bei einigen Tieren kurz vor dem Ende bis zur ausgesprochenen Atemnot, führte jedoch nie zu deutlichen Erstickungserscheinungen wie beim Colubridengift. Der Tod erfolgte unter leichten Zuckungen und schnappenden Atemzügen.

Alle diese Gifte hatten vereinzelt bei einigen später sterbenden Tieren (frühestens 2 Stunden nach der Injektion und 1-5 Stunden vor dem Tode) zu einer starken Auskühlung geführt.

Auch bei der oben erwähnten verschiedenartigen Vorbehandlung der Gifte blieben die Vergiftungserscheinungen die gleichen.

c.) Toxizität von Bienengift.

1. Nativgift.

Wurde das Gift Mäusen subcutan injiziert, so starb 3 Stunden nach der Injektion bei 75 Gamma/g das erste Tier; 100 Gamma/g führten nach 50 Stunden zum Tode. Die beiden

Tiere mit 50 Gamma/g machten nach 24 Stunden einen etwas kranken Eindruck.

Wurde das Gift Esculenten in den Brustlymphsack injiziert, wobei die injizierte Flüssigkeitsmenge 0,5-2 ccm betrug, so fanden sich die in Tabelle 15 verzeichneten Ergebnisse.

Tabelle 15

Toxizität von Bienen-Nativgift für Frösche (Esculenten).

Gamma/g	Tod nach
500	50 Min.
250	70 Min.
150	0
100	ca 16 Std. 0 0 0
75	0 0

0 = überlebendes Tier

2. Pikratgift.

Bei subcutaner Injektion streute die Toxizität des Giftes bei Mäusen stark. 100 Gamma/g überlebte eines von zwei vergifteten Tieren, während bei 25 Gamma/g ein Tier nach 32 Stunden starb. Im Vergleich zum Nativgift erwies sich Pikratgift als etwas giftiger.

Die intravenöse Injektion des Pikratgiftes 51 erbrachte bei Mäusen die LD_{50} von etwa 4 Gamma/g. 3 Gamma/g wurden von allen Tieren überlebt, 5 Gamma/g töteten alle Tiere. Das Pikratgift 52 war etwas toxischer. Bei 4 Gamma/g starben alle Tiere, die LD_{50} lag um 3 Gamma/g.

Tabelle 16

Toxizität von Pikrat-Bienengift (Pg).

intravenös: Gamma/g	Pg 51	Pg 52
6	+	+
5	+ + +	+ +
4	+(+)[1] o	+ + + +
3	o o o	+ + o(k)o o
2		o o o o

subcutan:

100	+ o(k)
75	(+)[2] o(k)o
50	+ o o o
25	(+)[3] o
12,5	o o

1) Tod nach 26 Std.
2) Tod nach 46 Std.
3) Tod nach 44 Std.

3. Bienengiftfraktionen.

Es wurden zunächst die von NEUMANN und HABERMANN papierelektrophoretisch dargestellten Fraktionen I und II ausgewertet; ferner kam die auf chromatographischem Wege gewonnene Fraktion I 52 (FISCHER und NEUMANN) zur Anwendung. Alle diese Fraktionen hatten sich im Hämolyseversuch anders verhalten als ihr Ausgangsmaterial, das Pikratgift (HABERMANN). Es blieb im Tierversuch zu prüfen, ob sich auch ihre Toxizität verändert hatte.

Fraktion II, die 8 mal phospholipaseaktiver als das Ausgangsmaterial (Pikratgift 52) gefunden war, erwies sich bei der Injektion von 5 Gamma/g, der absolut tödlichen Dosis des Ausgangsgiftes, als ungiftig für alle 3 Tiere.

Die papierelektrophoretische Fraktion I 52 war um höchstens 25 % weniger wirksam als das Ausgangsmaterial. 4 Gamma/g überlebten über 50 % der Tiere, bei 6 Gamma/g starben alle (s. Tab.).

Von der chromatographischen Fraktion I 52 wurden noch 4 Gamma/g von einem Teil der injizierten Tiere überlebt, während bei 3 Gamma/g 50 % starben (s. Tab.).

Eine der veränderten hämolytischen Wirkung (NEUMANN und HABERMANN) entsprechende Änderung der Allgemeintoxizität ließ sich also nicht feststellen.

Tabelle 17

Toxizität der Bienengiftfraktionen und des Ausgangsgiftes.

Gamma/g	F I 52 (papierelektrophor.)	F I 52 (chromatogr.)	Pikrat 52
6	+ + + +		+
5		+ +	+ +
4	+ + o o o	+ + + + +o(k)o o o	+ + + +
3	o o	+ + + + o(k) o o o	+ +o(k)o o
2,5		o o	
2			o o

4. Bienengift-Cysteinversuch.

Wie schon erwähnt, beschreiben BINET und Mitarbeiter eine Herabsetzung der Aktivität von Bienengift bei Einwirkung von Sulfhydrylverbindungen. Wir versetzten Bienenpikratgift (52) 1:500 mit Cystein, das 1:50 in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und mit 10%igem tert. Natriumphosphat zu pH 6,9 neutralisiert worden war, zu gleichen Teilen, so daß sich die Endkonzentration beim Gift auf 1:1000, beim Cystein auf 1:100 belief. Die Lösung wurde 1 Stunde im Wasserbad bei 37°C gehalten. Die intravenöse Injektion des

Gemisches ergab die gleiche Toxizität wie die des reinen Pikratbienengiftes.

5. Vergiftungsbild bei Bienengift.

Bei den intravenös vergifteten Mäusen trat der Tod in der Regel noch vor Ablauf von 30 Minuten post injectionem ein. 5-10 Minuten nach der Injektion machten die Tiere einen kranken Eindruck: sie saßen still, bewegten sich unsicher; ihre Atmung vertiefte und beschleunigte sich. Sie wurden zunehmend kraftloser und kamen schließlich nicht mehr von der Stelle; der Muskeltonus war jedoch vorhanden, ebenso wie Reaktionen auf äußere Reize. 2-3 Minuten vor dem Exitus lagen die Tiere in tiefem Koma völlig atonisch da. Die Respiration war stark verlangsamt und vertieft und wurde immer unregelmäßiger, bis der Tod erfolgte. Nur vereinzelt kamen mehr oder weniger starke klonische Krämpfe vor.

Die erst mehrere Stunden nach der intravenösen Injektion sterbenden und die krank überlebenden Tiere zeigten ebenso wie die subcutan vergifteten eine starke Unruhe und Übererregbarkeit. Dies war besonders eindrucksvoll nach subcutaner Injektion tödlicher Dosen. Im Gegensatz zu den Schlangengiften trat der Tod oft erst nach 30-50 Stunden ein. Von teils tonischen, teils klonischen Krämpfen erschüttert, standen die Tiere bei erhaltenem Bewußtsein stundenlang da oder liefen zuckend umher. Erst gegen das Ende hin blieben sie liegen, oft noch für die Dauer von mehreren Stunden. In diesem Stadium machte sich eine starke Auskühlung der Tiere bemerkbar. Die stark verlangsamte und angestrengte Atmung wurde immer unregelmäßiger, bis der Tod eintrat.

Das Pikratgift sowie die Fraktionen riefen die gleichen Symptome wie das native Bienengift hervor.

Bei den mit tödlichen Dosen vergifteten Fröschen machte sich etwa 10 Minuten nach der Injektion ein veränderter Atmungstyp (Verlangsamung und Unregelmäßigkeit) bemerkbar. Die Tiere bewegten sich kaum, besaßen keinen Muskeltonus mehr und reagierten träge. Der Tod erfolgte ohne Krampferscheinungen.

III.) Besprechung.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte versucht werden, Näheres über die Natur des allgemeintoxischen Prinzips von Schlangen-und Bienengift zu ermitteln.

Man nimmt allgemein an, daß in den Schlangengiften neurotoxische, das heißt unmittelbar an nervösen Substraten angreifende Substanzen enthalten sind. Es ist allerdings noch ungeklärt, ob sich diese Einflüsse überwiegend am peripheren oder am zentralen Teil des Nervensystems geltend machen; eine Übersicht über diese Fragen findet sich bei v. BRUCHHAUSEN.

Die chemische Natur der infrage kommenden, höchstwahrscheinlich eiweißartigen Verbindungen ist noch weitgehend ungeklärt. SLOTTA isolierte aus Crotalusgift das sogenannte Crotoxin, welches doppelt so stark allgemeintoxisch und lecithinolytisch wirkt wie das Ausgangsmaterial. Indische Autoren(GHOSH, DE, SARKAR)sowie MICHEEL und Mitarb. gewannen aus Naja-Giften allgemeintoxische Prinzipien. Auf Grund präparativ-elektrophoretischer Arbeiten, welche im Chemischen Institut der Universität Würzburg von F. G. FISCHER und W. P. NEUMANN ausgeführt wurden, konnten wir Fraktionen von Naja-haje-Gift und Naja nigricollis auf ihre Allgemeintoxizität prüfen. In parallellaufenden Untersuchungen wurde die direkt-hämolytische Wirksamkeit und die Phospholipase-A-Aktivität dieser Fraktion bestimmt (HABERMANN und NEUMANN). Es fällt auf, daß die Allgemeintoxizität nur in der Fraktion C von Naja nigricollis etwas angereichert erscheint; die übrigen Fraktionen dieses Giftes sind deutlich schwächer wirksam als das Ausgangsmaterial. Beim Gift von Naja haje konnte kein eindeutiges Toxizitätsmaximum festgestellt werden. Die Phospholipaseaktivität der einzelnen Fraktionen ging der von uns festgestellten allgemeintoxischen Wirkung nicht parallel; die Fraktion E von Nigricollisgift z. B. spaltete Lecithin etwa 4mal stärker als das Ausgangsmaterial, war aber 5-6mal weniger toxisch. Auch beim Naja-haje-Gift ist

die mit Abstand am stärksten lecithinolytische Fraktion E nicht toxischer als etwa die praktisch phospholipasefreie Fraktion A.

Es muß betont werden, daß der Nachweis der Anreicherung eines neurotoxisch wirksamen Stoffes durch verschiedene Faktoren gestört werden kann. Insbesondere erscheint es möglich, daß durch Entfernung von Komponenten, welche das Eindringen dieses Stoffes ins Gefäß- bzw. Nervensystem begünstigen, eine Toxizitätsabnahme vorgetäuscht werden kann. Außerdem könnten verschiedene toxische Prinzipien synergistisch oder Inaktivatoren maskierend wirken. Veränderungen im Gehalt an Inaktivator könnten Schwankungen der toxischen Wirkung vortäuschen. Diese Probleme können erst durch weitere Versuche geklärt werden.

Die Stabilität der toxischen Prinzipien ist sehr von den Milieubedingungen abhängig und bei Viperiden und Colubriden verschieden. Bereits Stehenlassen bei einem pH in der Nähe des Neutralpunkts führt binnen einigen Tagen zu geringer Abschwächung; noch deutlicher wird die Inaktivierung bei Erhöhung der Temperatur. Das Gift von Vipera ammodytes war bei jedem pH gegen kurzzeitiges Erhitzen auf 98°C sehr empfindlich; n/20 Sodalösung schien es zu zerstören. Dagegen war das Gift von Naja nigricollis im Sauren (pH 1-6) relativ thermostabil, während bei pH 7 die letale Dosis auf mindestens das Zehnfache, durch n/20 Sodalösung auf mindestens das Fünffache erhöht war.

Nach Untersuchungen von BINET und Mitarb. soll Cystein die Toxizität von Cobragift stark reduzieren. In unseren Versuchen mit Nigricollisgift war dies nicht der Fall; es können also über die Bedeutung von Disulfidbrücken für die Allgemeintoxizität bei diesem Gift keine Aussagen gemacht werden.

Bei den Versuchen mit Bienengift konnten zunächst die älteren Ergebnisse von NEUMANN und HABERMANN bestätigt werden. Die LD_{50} von Pikratgift 51 lag bei 4 Gamma/g, für Pikratgift 52 bei 3 Gamma/g. Die papierelektrophoretische

und die chromatographische Fraktion I unterschieden sich in ihrer Toxizität nicht signifikant; möglicherweise war die chromatographische Fraktion I etwas aktiver. Bei den Versuchen von NEUMANN und HABERMANN war die elektrophoretische Fraktion I deutlich weniger wirksam als die chromatographische. Es mag dies damit zusammenhängen, daß die von uns benutzte elektrophoretische Fraktion I aus höher konzentrierten Lösungen und in kürzerer Zeit gewonnen wurde, und so eine Verunreinigung durch inaktives Begleitmaterial weniger wahrscheinlich war.

Durch Cystein ließ sich Bienengift im Gegensatz zu den Angaben von BINET und Mitarb. nicht inaktivieren. Dies war insofern nicht überraschend, als Fraktion I als toxisches Prinzip von Bienengift keinen Schwefel enthält (FISCHER und NEUMANN) und deshalb wohl auch kaum durch Sulfhydrylverbindungen beeinflußt werden kann.

Die Vergiftungsbilder bei Applikation von Schlangengift und bei intravenöser Injektion von Bienengift waren uncharakteristisch. Dagegen war die starke Erregbarkeitszunahme bei subcutaner Injektion von Bienengift sehr auffallend. Eine solche zentralerregende Wirkung von Bienengift wurde bereits von GERLICH angenommen. Bei Fröschen beobachteten wir ein ausgesprochen curareartiges Bild. Möglicherweise trat dies bei den Warmblütern deshalb nicht auf, weil die zentrale Atemlähmung der curareartigen vorhergeht und damit beim Warmblüter deren Ausbildung verhindert.

IV.) Zusammenfassung.

Bei Colubridengiften lag die LD_{50} von Naja-haje-Gift für Mäuse bei intravenöser und intraperitonaealer Injektion bei etwa 0,5 Gamma/g. Die intraperitonaealen LD_{50}-Werte von 2 verschiedenen Chargen Nigricollisgift unterschieden sich mit 1,3 bzw. 0,45 Gamma/g erheblich. Umfällung über das Pikrat sowie längeres Stehenlassen der Lösungen bei 2° bzw.

37°C führte zu einem geringen Toxizitätsverlust von Haje- und Nigricollisgift.

Von den elektrophoretischen Fraktionen des Nigricollisgiftes (F. G. FISCHER und W. P. NEUMANN) war Fraktion C am giftigsten, die phospholipasereiche Fraktion E war erheblich schwächer toxisch. Beim Naja-haje-Gift ließ sich ein entsprechendes Maximum nicht feststellen. Im Sauren war das Gift von N. nigricollis relativ thermostabil, am Neutralpunkt und im Alkalischen dagegen sehr thermolabil. Durch Cysteinzusatz wurde es nicht inaktiviert.

Bei Viperidengiften betrug die LD_{50} von Kreuzottergift für die Maus 1,25 Gamma/g i. p., für Ammodytesgift 1,5 Gamma/g i. p. bzw. 1,25 Gamma/g i. v. Die LD_{50} für Echis carinatus und Bitis arietans lag ebenfalls um 1 Gamma/g. Durch Stehenlassen bei pH 6,2 und 9,0 wurden Echis-und Bitisgift wenig, durch Stehenlassen bei pH 3 deutlich (Bitis stärker als Echis) geschädigt. Die Toxizität von Ammodytesgift wurde im Sauren und im Alkalischen ebenso wie am Neutralpunkt durch Erhitzen stark abgeschwächt.

Beim Bienengift war das Nativgift ebenso wie sogen. Pikratgift bei subcutaner Injektion für Mäuse mindestens 10mal weniger giftig als bei intravenöser. Bei subcutaner Injektion kam es im Gegensatz zur intravenösen zu sehr starken Erregungszuständen. Frösche starben durch noch höhere Giftdosen unter Lähmungserscheinungen.

Die intravenöse LD_{50} von Pikratgift 51 liegt für Mäuse bei 4, die von Pikratgift 52 bei 3 Gamma/g. Von gleicher Größenordnung ist die Toxizität der papierchromatographischen und papierelektrophoretischen Fraktion I. Unter der Einwirkung von Cystein änderte sich die Toxizität von Bienenpikratgift nicht.

Es sei mir erlaubt, an dieser Stelle HERRN PROFESSOR DR. DR. W. NEUMANN ergebensten Dank zu sagen für die Überlassung des Themas und das freundliche Entgegenkommen, im Pharmakologischen Institut zu arbeiten.

HERRN DR. E. HABERMANN möchte ich aufrichtig danken für seine Anleitung und stete Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Arbeit.

V.) Literaturnachweis.

BINET,L.u.M.BURSTEIN	Presse méd.47, 1477(1939)
BINET,L.,G.WELLER u. E.ROBILLARD	C.r.Soz.Biol.131, 954(1939)
BRUCHHAUSEN, F.v.	Unveröffentlichte Untersuchungen 1953
CONÇALVES,M.u.A.POLSON	Arch.biochem.13, 253(1947)
FISCHER,F.G.u.W.P.NEUMANN	Biochem.Z.324, 447(1953)
FISCHER,F.G.u.W.P.NEUMANN	Z.physiol.Chem.(im Druck)
GERLICH,N.	Arch.exper.Path.Pharmakol.211,97(1950)
HABERMANN,E.	Unveröffentlichte Untersuchungen
GHOSH,B.N.u.S.S.DE	Ind.J.Med.Res.25, 779(1938)zit.nach SLOTTA
MACFARLANE,M.G.u. B.C.J.G.KNIGHT	Biochem.J.35, 884(1941)zit.nach ZELLER
MENK,W.	Mü.med.Wschr.8, 307(1930)
MICHEEL,F.,H.DIETRICH u. G.BISCHOFF	Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem.249, 160(1937)
MICHEEL,F.u.H.SCHMITZ	Ber.chem.Ges.71, 703(1938)
NEUMANN,W.u.E.HABERMANN	Arch.exper.Path.Pharmakol.(im Druck)
OTTO,R.	Z.Hyg.114, 531(1932)
POLSON,A.,F.G.JOUBERT u. D.A.HAIG	Biochem.J.40, 265(1946)zit.nach SLOTTA
ROCHA e SILVA,M.	Arch.exper.Path.Pharmakol.194, 351(1940)
SARKAR,N.K.	J.Indian chem.Soc.24, 61(1947)zit. nach SLOTTA
SLOTTA,K.H.	Experientia IX/3, 81(1953)
SLOTTA,K.H.u.H.L.FRAENKEL-CONRAT	Ber.chem.Ges.71, 1076(1938)
SUMNER,J.B.	in Sumner-Myrbäck "The Enzymes", New-York 1951,Vol.I p.2
ZELLER,E.A.	in Sumner-Myrbäck "The Enzymes", New-York 1951,Vol.I p.2

VI.) Lebenslauf.

Am 28. November 1925 wurde ich, Lydia Barbara Wlosczyk, als Tochter des Postsekretärs Albert Wlosczyk und seiner Ehefrau Auguste, geb. Huppa, zu Zawisna Kreis Rosenberg in Schlesien geboren. Nach 4 Grundschuljahren besuchte ich in Gleiwitz die Eichendorff-Oberschule und legte dort am 8.2.1944 die Reifeprüfung ab. Anschließend wurde ich für 12 Monate zum Reichsarbeitsdienst eingezogen. Von April 1945 bis September 1947 gehörte ich der D.R.K.-Schwesternschaft in der Göttinger Universitäts-Kinderklinik an. Im Wintersemester 1947/48 begann ich an der Universität Göttingen Medizin zu studieren und legte dort am 1. März 1950 das Physikum ab. An der Universität Würzburg setzte ich das Studium fort und beendete es im Sommer 1953 mit dem Staatsexamen. Seit Dezember 1953 arbeitete ich im Pharmakologischen Institut Würzburg als Volontärassistentin.

Hiermit versichere ich ehrenwörtlich, daß ich zur Anfertigung vorliegender Arbeit keine weiteren Hilfsmittel als die angegebenen Quellen benutzt habe.

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich bishor von keiner anderen Seite ein Thema zur Bearbeitung für eine Dissertation erhalten habe.

Lydia Wlosczyk

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG SOLDFYSTEINSTR. 5